

University of Groningen

## The role of male courtship behaviour in prezygotic isolation in *Nasonia*

Peire Morais, Aitana

**IMPORTANT NOTE:** You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

*Document Version*

Publisher's PDF, also known as Version of record

*Publication date:*

2007

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

*Citation for published version (APA):*

Peire Morais, A. (2007). *The role of male courtship behaviour in prezygotic isolation in Nasonia: Do wasps finish what bacteria started?* s.n.

### Copyright

Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

### Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.

# 12.

## Resumen y conclusiones



Los mecanismos de especiación son aquellos que contribuyen a crear, fomentar o mantener el aislamiento reproductivo entre poblaciones. Estudios previos en la avispa parasitoide *Nasonia* apuntan a que la causa original del aislamiento reproductivo entre sus especies es la infección con diferentes cepas de la bacteria *Wolbachia* (Werren 1997; Bordenstein y col. 2001). Las distintas cepas de *Wolbachia* provocan incompatibilidad citoplasmática en los cruces híbridos, de manera que los gametos masculinos no fertilizan a los femeninos (Werren 1997). En organismos diploides la incompatibilidad citoplasmática resulta en mortalidad zigótica, mientras que en organismos haplodiploides, como las avispas (Hymenoptera), el resultado son sólo machos, que son haploides y derivan directamente de la madre (Bordenstein y Werren 1998). A consecuencia de la incompatibilidad citoplasmática la selección natural favorecerá el aislamiento prezigótico, que evite el coste del esfuerzo reproductivo de los cruces híbridos (Bordenstein y Werren 1998; Telschow y col. 2002, 2005). La teoría de reforzamiento postula que un coste asociado al cruce entre poblaciones simpátricas derivará en la divergencia de los mecanismos de selección sexual que eviten estos cruces (ej. Noor 1999). Sin embargo, los cruces entre *Nasonia* que no portan la infección son compatibles, aunque pertenezcan a distintas especies, de manera que es posible producir híbridos (Bordenstein y col. 2001) ya que *Nasonia* puede ser desinfectada de *Wolbachia* con tratamientos antibióticos. Por otro lado, dos de las especies de

The role of male courtship behaviour in prezygotic isolation in *Nasonia*...

*Nasonia*, *N. giraulti* y *N. longicornis* son endémicas del Este y el Oeste de Norte América respectivamente y son simpátricas en su rango de distribución con una tercera especie, *N. vitripennis*, cuya distribución es cosmopolita y cuenta con poblaciones alopátricas al menos en el continente europeo.

Entender los mecanismos genéticos subyacentes a las diferencias entre especies cercanas ayuda a desvelar cómo y por qué se diferenciaron las especies. La comparación de los mecanismos genéticos responsables de las diferencias entre especies con los responsables de la variabilidad dentro de una misma especie puede permitirnos determinar si la especiación se ha producido mediante mecanismos surgidos durante el proceso, o a través mecanismos intrínsecos de la especie ancestral (Orr 2001). Algunas cuestiones básicas que se pueden plantear en el estudio de la estructura genética son cuántos genes están implicados, cuál es su lugar en el genoma y cómo interactúan los genes para dar lugar al fenotipo.

En esta tesis he estudiado el papel del cortejo sexual de los machos en la especiación de la avispa parasitoide *Nasonia*, analizando la estructura genética del cortejo, para intentar determinar qué fuerzas selectivas lo han modulado, y cuál es su posible potencial evolutivo.

## Genética del cortejo masculino

Una de las especies de *Nasonia*, *N. vitripennis*, ha sido objeto de estudios etológicos durante más de medio siglo (Barras 1960, van den Assem 1986). Aunque las otras dos especies del género, *N. longicornis* y *N. giraulti* fueron descubiertas más recientemente (Darling y Werren 1990), su cortejo ha sido también caracterizado, presentando las tres especies un patrón común con pequeñas variaciones específicas (van den Assem y Werren 1994). Durante el cortejo, el macho de *Nasonia* se sube encima de la hembra y realiza

vigorosos movimientos con la cabeza (“headnods” o cabezadas) (Fig. 2 en el capítulo 1; van den Assem 1986; Beukeboom y van den Assem 2004). La primera cabezada de una serie se acompaña de una descarga de feromonas, necesarias para desencadenar la receptividad de la hembra (van den Assem y col. 1980; van den Assem 1986; van den Assem y Werren 1994). Cada ciclo de cortejo está compuesto por una serie de cabezadas consecutivas y una pausa (Fig. 1, capítulo 1). Existen diferencias cualitativas específicas en el cortejo, y ciertos elementos del mismo están presentes en alguna de las especies pero no en las tres. Por ejemplo, el “feet rubbing” (movimiento de las patas delanteras del macho “barriendo” los ojos de la hembra) y los “minus nods” (cabezadas entre series que no van acompañadas de liberación de feromonas) son específicos de *N. longicornis*. Otras diferencias específicas son cuantitativas, como por ejemplo el número medio de cabezadas por ciclo, la diferencia en el número de cabezadas entre los dos primeros ciclos (“2 minus 1”), el número total de ciclos que el macho realiza, o la duración de los ciclos (van den Assem y Werren 1994; Beukeboom y van den Assem 2001).

### • *Variación interespecífica*

En estudios anteriores de machos híbridos procedentes del cruce entre *N. longicornis* y *N. vitripennis* se demostró que el comportamiento de los machos estaba sesgado hacia el comportamiento de sus abuelos (los machos haploides no tienen padre) y se propuso la impronta genética como una de las posibles causas para explicar este comportamiento (“el efecto abuelo”; Beukeboom y van den Assem 2001, 2002). Recientemente Pietsch y col. (en prep.) construyeron un mapa genético mediante QTL (*quantitative trait loci*) de los híbridos procedentes de machos *N. longicornis* y hembras *N. vitripennis*. Encontraron QTL asociados a todos los rasgos estudiados con la excepción del “2 minus 1”, distribuidos en los cinco cromosomas de *Nasonia*.

Con el objeto de profundizar en el estudio del cortejo del macho,

en primer lugar hice una estimación del número de genes (nef) responsables de las diferencias en el cortejo entre las especies de *Nasonia* para dos de sus elementos, el número de cabezadas por ciclo y la duración del ciclo (capítulo 2). El número de genes fue bajo en ambos casos (diferencia en el número medio de cabezadas entre *N. longicornis* y *N. vitripennis* =  $0,60 \pm 0,075$  varianza; diferencias en la duración de los ciclos =  $0,31 \pm 0,22$ ; entre *N. longicornis* y *N. giraulti*  $1,49 \pm 3,76$  y  $0,72 \pm 1,28$  para las cabezadas y los ciclos, respectivamente). Estos resultados pueden reflejar la estructura genética del rasgo, o la acción de la selección natural en el proceso de especiación. Así, una presión selectiva fuerte sobre un número reducido de genes de gran efecto sobre el fenotipo puede provocar divergencias fenotípicas acusadas (Orr 2001).

A continuación, mediante métodos de genética cuantitativa, analicé la herencia del cortejo masculino en cruces entre *N. longicornis* y las otras dos especies, para determinar la presencia de interacciones no aditivas entre los genes, o entre los genes y otros factores, que afectaran a la expresión fenotípica (capítulo 3). En los híbridos entre *N. longicornis* y *N. vitripennis* sólo se confirmó el “efecto abuelo” descrito por Beukeboom y van den Assem (2001) en el número de cabezadas de uno de los grupos híbridos (pero no el en cruce recíproco), mientras que la duración de los ciclos apareció afectada por un “efecto abuela”, imposible de distinguir en los experimentos planteados de un posible efecto materno. En los híbridos entre *N. longicornis* y *N. giraulti*, el número de cabezadas fue intermedio al de las especies parentales, mientras que la duración de los ciclos fue similar a la de *N. giraulti*. Así pues, los resultados mostraron variabilidad para la presencia de efectos no aditivos. Aunque no puede descartarse la impronta genética, estos resultados reflejan con mayor probabilidad el efecto de la epistasis, complejas interacciones entre genotipos no co-adaptados (ej. Orr y Turelli 2001; capítulo 6).

Para completar el estudio de los híbridos, construí un mapa de QTL para el cortejo masculino en híbridos procedentes de machos *N. vitripennis* y hembras *N. longicornis* que complementa el trabajo de

Pietsch y col. (en prep.) en machos resultantes del cruce recíproco. Los resultados muestran un sesgo de la mayoría de los elementos del cortejo de los híbridos hacia *N. longicornis*, en contraste con el estudio de Beukeboom y van den Assem (2001, 2002), en el que el comportamiento de los machos aparecía sesgado hacia *N. vitripennis*. Encontré QTL para todos los elementos del cortejo, incluido el “2 minus 1” que no había sido previamente asociado a ninguna posición en el mapa genético. En consonancia con el estudio de Pietsch y col. (en prep.), los QTL estaban distribuidos en los cinco cromosomas y explicaban entre el 29 y el 95% de la varianza fenotípica total. También encontré QTL e interacciones epistáticas asociadas a fenotipos inversos (alelos de una especie asociados al fenotipo de la otra). La explicación más probable es que la estructura genética para el cortejo del macho no esté fijada en ninguna de las dos especies. Sin embargo, los fenotipos de las dos especies no se superponen, lo que sugiere que hay interacciones epistáticas que afectan al fenotipo de los machos de las especies puras. Así, interacciones epistáticas complejas contribuirían a silenciar alelos no favorables que de otro modo serían purgados por la selección natural (Merilä y Sheldon 1999; capítulo 5). La presencia de interacciones epistáticas podría haber provocado un sesgo a la baja en la estimación del número de genes responsables de las diferencias específicas (ej. Jones 2001, Saldamando y col. 2005).

### • *Variación intraspecífica entre poblaciones*

Dentro de una misma especie, analicé la estructura genética de las diferencias en cortejo entre varias poblaciones, estimando el número de genes implicados en el proceso (capítulo 2) y analizando su herencia en cruces entre poblaciones con distinto comportamiento (capítulo 3) para cuantificar las interacciones no aditivas y determinar su naturaleza. Como en el caso de las diferencias entre especies, el número de genes que explica las diferencias intraspecíficas fue bajo (media±varianza entre poblaciones de *N. vitripennis* simpátricas con *N. longicornis*:  $0,46 \pm 1,21$  para el número



de cabezadas y  $0,48 \pm 1,27$  para las duraciones de los ciclos; para poblaciones alopátricas de *N. vitripennis*:  $0,34 \pm 0,89$  para el número de cabezadas;  $0,14 \pm 0,35$  para las duraciones de los ciclos; *N. longicornis*:  $0,20 \pm 0,43$  para el número de cabezadas,  $0,01 \pm 0,01$  para las duraciones de los ciclos). Dentro de una especie, la selección estabilizadora, que mantiene el fenotipo dentro de un rango, tiende a reducir la variabilidad genética, resultando en un número bajo de alelos en la especie que puedan ser responsables de parte de la variación fenotípica. En el cortejo entre las poblaciones de *N. longicornis* encontré el menor número de genes implicados, quizá porque la selección natural ha eliminado gran parte de la variabilidad genética en esta especie. Mientras que *N. vitripennis* tiene poblaciones alopátricas en las que está libre de la selección en contra de la hibridación, *N. longicornis* es simpátrica con *N. vitripennis* en toda su distribución. De hecho, la media de las cabezadas en poblaciones de *N. vitripennis* simpátricas con *N. longicornis* difiere más de la media específica de esta última que las cabezadas de poblaciones alopátricas, sugiriendo que la presión de selección está presente y favorece la divergencia fenotípica en poblaciones simpátricas pero no en las alopátricas.

Los cruces entre poblaciones mostraron variabilidad para la presencia de interacciones no aditivas que parecían depender del cruce concreto entre dos poblaciones y de la interacción de un genoma y un citoplasma concretos. Otra posible fuente de variabilidad pueden haber sido los efectos ambientales difíciles de controlar, como por ejemplo, pequeñas variaciones durante el desarrollo. En concreto, los machos F2 (en haplodiploides la generación F1 está compuesta exclusivamente por hembras) se asemejaban en su fenotipo a la misma especie parental, o bien estaban influidos por efectos del abuelo, o bien de la abuela, o eran intermedios a ambos parentales (aditividad). La gran presencia de interacciones no aditivas podría ser el resultado de un número reducido de loci interaccionando y generando fenotipos que difieren significativamente entre especies y poblaciones. La epistasia es una

importante fuerza moduladora del fenotipo (Merilä y Sheldon 1999; Phillips y col. 2000) quizá especialmente importante en los machos haploides, debido a que la dominancia no puede propiciar la expresión de alelos favorables (Boake 2002).

Variación entre individuos en una población

En los capítulos 4 y 5 he analizado la estructura genética de las variaciones en el cortejo del macho entre individuos de una misma población. En el capítulo 4 realicé un experimento de selección en *N. vitripennis* con el objetivo de obtener líneas divergentes en uno de los elementos cortejo, el número de cabezadas, para después cruzar las líneas y estudiar la herencia de este rasgo. La respuesta a la selección fue débil, indicando la ausencia de suficiente variabilidad genética. En el capítulo 5 analicé los componentes de la varianza genética de las cabezadas y las duraciones de los ciclos mediante el análisis de covarianzas entre machos relacionados (hermanos, medio hermanos, abuelos y nietos, tíos y sobrinos; siempre refiriéndome a sus equivalentes en haplodiploides). En las tres poblaciones analizadas encontré de nuevo evidencia de escasa variabilidad genética. Otro hallazgo interesante fue que los dos rasgos no estaban correlacionados, apuntando a estructuras genéticas independientes en cada uno. Además, el análisis de las cabezadas era consistente con efectos maternos, y posiblemente epistasia, mientras que el de las duraciones de los ciclos apuntaba a efectos del abuelo y de la abuela, que podrían ser consistentes con la existencia de impronta genética.

## Selección del cortejo e implicaciones evolutivas

Como ya he mencionado, las poblaciones norteamericanas de *N. vitripennis* son simpátricas o bien con *N. longicornis* o bien con *N. giraulti*. Es común que las barreras prezigóticas entre especies

simpátricas relacionadas consistan en la divergencia del cortejo además de la preferencia por parte de las hembras que conlleva el reforzamiento del aislamiento prezigótico (ej. Noor 1999). Sin embargo, el cortejo también sirve a las hembras como un indicador de la cualidad del macho (selección sexual intraspecífica; Maynard Smith 1991).

En el capítulo 7 he estudiado si la preferencia de las hembras por el cortejo masculino es un mecanismo de especiación en *Nasonia*. Para discernir qué elementos del cortejo servían a las hembras para elegir pareja usé líneas recombinantes consanguíneas (RIL, *recombinant inbred lines*), resultado del cruce entre *N. vitripennis* y *N. longicornis*, con el objeto de segregar los distintos elementos del cortejo en las distintas líneas. Los resultados encontrados mostraron que los rasgos que afectan la receptividad de las hembras diferían entre especies. Mientras que las hembras de *N. longicornis* preferían ciclos largos, característico de sus machos conspecíficos, las hembras de *N. vitripennis* preferían un “2 minus 1” negativo, característico de los machos de *N. vitripennis*. La baja receptividad de las hembras en cruces interespecíficos en comparación con los cruces intraespecíficos (0,45 *vs* 1 en *N. vitripennis* y 0 *vs* 0,95 en *N. longicornis*) confirmó la presencia de barreras prezigóticas entre las dos especies (Bordenstein y col. 2000).

En el capítulo 8 exploré la posible influencia de la impronta genética que provocara un sesgo en los machos hacia el comportamiento del abuelo (Beukeboom y van den Asem 2001) en el proceso de especiación. Construí un modelo con dos poblaciones de organismos haplodiploides, aisladas y con migración entre ellas, que sufrían incompatibilidad citoplasmática en los cruces entre poblaciones, y estudié si la selección favorecía el aislamiento prezigótico mediante la divergencia del cortejo. Al igual que en estudios anteriores (Telschow y col. 2002, 2005) en mis simulaciones la incompatibilidad citoplasmática era suficiente para mantener el aislamiento reproductivo. No encontré, sin embargo, un papel claro del sesgo en el cortejo que favoreciera la divergencia, excepto dentro

de un grupo de parámetros muy limitado (5%-6% de emigrantes entre las poblaciones). En este grupo de parámetros era también donde se producía la especiación por selección en contra de cruces incompatibles (reforzamiento).

## Conclusiones

---

 227

En esta tesis he analizado la estructura genética del cortejo de los machos de *Nasonia*, para intentar determinar qué fuerzas selectivas lo han modulado, y cuál es su posible potencial evolutivo. En concreto, me he centrado en el posible papel desempeñado en el proceso de especiación por dos elementos comunes a las tres especies de *Nasonia*, duración de un ciclo, y número de cabezadas dentro del ciclo. Los resultados demuestran que, a pesar de que las diferencias más importantes en el cortejo son entre las especies, también hay una importante variabilidad fenotípica dentro de cada especie. Esto no parece corresponder con altos niveles de variación genética (capítulos 4 y 5). En el capítulo 2 estimé el número de genes (*nef*) responsable de la variación fenotípica. Éste resultó ser bajo tanto entre como dentro de las especies, aunque quizá debido a distintas fuerzas selectivas. Mientras que la selección que favorecería la divergencia del cortejo entre las especies puede haber actuado sobre unos pocos genes de gran influencia, la selección estabilizadora dentro de una especie puede haber contribuido a mantener la variabilidad genética en niveles bajos. Así, la gran cantidad de interacciones no aditivas con que a menudo me he encontrado en los cruces (capítulos 3, 5 y 6) pueden ser consecuencia de unos pocos loci cuyas interacciones provocan una variación fenotípica significativa entre especies y poblaciones. La naturaleza de estas interacciones a menudo parecía diferir entre las cabezadas y las duraciones de los ciclos (capítulos 3 y 5), quizá como consecuencia

de distintas presiones de selección. Confirmando este punto (capítulo 7) las hembras de *N. longicornis* y *N. vitripennis* elegían a los machos de acuerdo a variaciones en distintos rasgos (duraciones de los ciclos y cabezadas respectivamente). Sin embargo, no es posible descartar por completo el efecto de factores ambientales que hayan introducido variabilidad en mis datos. En conclusión, mis resultados confirman que la estructura génica del cortejo en *Nasonia* es compleja, y está influida por interacciones aditivas y no aditivas de los genes, y posiblemente por factores ambientales y del desarrollo.

—  
228

Esta complejidad dificulta la elucidación del potencial evolutivo del proceso de cortejo. Mientras que la incompatibilidad citoplasmática parece haber sido la causa primaria del aislamiento reproductivo, aún no está completamente claro cómo puede haber contribuido el cortejo en el reforzamiento del proceso de especiación (capítulo 7) que debería ser estudiado en poblaciones simpátricas de las tres especies de *Nasonia*. Por otro lado, aunque yo no he encontrado en mis experimentos un papel claro de la impronta genética en la divergencia del cortejo, otro tipo de interacciones no aditivas pueden haber influido en el proceso. De hecho, las evidencias apuntan a que las interacciones no aditivas que afectan el cortejo de *Nasonia* son principalmente epistáticas (capítulos 3, 5 y 6). Futuras líneas de investigación deberían tratar de elucidar la naturaleza de las interacciones genéticas en el cortejo de *Nasonia* para poder comprender su evolución.

